Fetal Cell Count Kit™

Détection et quantification des hématies fœtales par cytométrie en flux

REF[1] IQP-379   25 tests

Instructions d'utilisation

IVD CE Dispositif médical de diagnostic in vitro

Utilisation

Le kit "Fetal Cell Count™" permet l'identification et la quantification précise des hématies fœtales dans le sang maternel par cytométrie en flux. La méthode est basée sur l'analyse par fluorescence de deux marqueurs intracellulaires: l'Hémoglobine Foetale (HbF) et l'Anhydrase Carbonique (AC). Les deux marqueurs sont détectés dans les érythrocytes des échantillons sanguins prélevés sur EDTA ou sur héparine. L'analyse bi-paramétrique complète d'une série d'échantillons peut être réalisée dans un délai de 2h à compter du prélèvement.

Principe du test de cytométrie en flux

Le test "Fetal Cell Count™" est basé sur l'utilisation simultanée de deux anticorps. L'un est dirigé contre l'hémoglobine fœtale (HbF), qui est exprimée dans les érythrocytaires fœtaux et dans un faible pourcentage d'érythrocytes adultes, dénommés cellules F. Le second anticorps est dirigé contre l'Anhydrase Carbonique (AC) dont l'expression est limitée aux érythrocytes adultes, avec toutefois une faible expression à une étape finale de différenciation des érythrocytes fœtaux. La révélation des deux marqueurs en cytométrie permet la détection simultanée des deux antigènes intra-cellulaires des cellules traitées par le formaldéhyde (agent fixateur) et le dodecyl sulfate de sodium (SDS, agent perméabilisant). Il en résulte un faible bruit de fond, une perte négligeable d'HbF, et une agglutination minimale des cellules traitées.

Pour tous les échantillons des patients, il est recommandé de toujours inclure un échantillon sanguin d'un adulte (homme) enrichi de 5 % de sang ombilical en guise de contrôle positif, et sans sang ombilical comme contrôle négatif.

Contenu du Kit

Réactif A	Solution de Fixation (A) - Contient < 0,1% d' azide de sodium	2,5 mL
Réactif B	Solution de Fixation (B) - Solution tamponnée de formaldéhyde X_n R20/21/22, 36/37/38, 40, 43	2,5 mL
Réactif C	Solution de perméabilisation (C) - Dodecyl Sulfate de Sodium (SDS) X_n R20,22,36/37/38,41,42	2,5 mL
Réactif D (10x)	Solution de lavage (D 10x). Solution de PBS 10x contenant de l'héparine	1 x 50 mL
Réactif E	Anticorps polyclonal de lapin dirigé contre la carbonique anhydrase humaine, marqué FITC. Contient < 0,1% d' azide de sodium	1,3 mL
Réactif F	Anticorps monoclonal de souris dirigé contre l'hémoglobine fœtale humaine, marqué R-PE. Contient < 0,1% d' azide de sodium	1,3 mL

Les réactifs sont prêts à l'emploi, 25 tests par kit.

Matériel et solutions nécessaires non inclus dans le kit

Centrifugeuse de laboratoire, tubes stériles de 5 mL, tubes pour cytométrie en flux, tubes de prélèvement avec anticoagulant, tampon PBS pH 7,4, eau déminéralisée, micropipettes ajustables et tips adaptés, vortex, hémocytomètre ou compteur de cellules automatique, minuteur de laboratoire, cytomètre de flux.

Conservation

A réception, les réactifs doivent être conservés à 2-8 °C, à l'abri de la lumière. Les réactifs ainsi conservés sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette. Les réactifs doivent être remis rapidement à 2-8 °C après utilisation.

Précautions d'emploi

Les réactifs contenant de l'azide de sodium peuvent réagir avec la plomberie et provoquer la formation de dérivés explosifs. La plomberie doit être abondamment rincée à l'eau en cas d'évacuation des solutions dans l'évier. Les échantillons des patients ainsi que les réactifs du laboratoire doivent être manipulés avec les précautions d'usage en respectant les Bonnes Pratiques de Laboratoire.
Le réactif B contient de la formaldéhyde, un agent hautement toxique provoquant des allergies et potentiellement cancérogène.
Le réactif C contient du dodecyl sulfate de sodium (SDS), produit irritant. Ne pas pipeter à la bouche et porter des gants et des lunettes pendant les manipulations de ces réactifs pour éviter tout contact avec la peau et les yeux.
Le test de cytométrie doit être pratiqué par un personnel habilité et entraîné. Merci de contacter le fabriquant ou le distributeur en cas d'endommagement du kit.

Collecte et préparation des spécimens

Préparation du réactif

- Avant l'analyse, la solution de lavage concentrée (réactif D 10x) doit être diluée. Environ 16 ml deréactif D 1x est nécessaire par échantillon. 18 ml de 0,2 µl d'eau déminéralisée filtrée pour 2 ml de réactif D 10x de solution de lavage. Le volume total est de 20 ml de solution de lavage D 1x (volume maximum). Par exemple, lors de l'analyse de l'échantillon d'un patient, un contrôle négatif et positif de 60 ml du réactif D 1x est utilisé.

- Tous les réactifs doivent être à température ambiante avant utilisation. Il est particulièrement important que le réactif C soit à température ambiante (les précipités doivent être dissouts avant utilisation).

Collecte et traitement de l'échantillon d'un patient

- Collectez (au moins) 1,0 ml de sang veineux dans un tube contenant de l'EDTA ou de l'héparine par prélèvement sanguin aseptique. Les échantillons sanguins doivent soit être conservés à une température entre 2 et 8 °C ou à température ambiante (entre 20 et 25 °C) jusqu'à ce qu'ils soient traités. Après 12 heures, l'échantillon doit être conservé entre 2 et 8 °C et doit être analysé dans un délai de 72 heures.
- L'échantillon d'un patient stocké (entre 12 et 72 heures) doit être nettoyé trois fois à l'aide d'un réactif D 1x (3 x 2 ml à 300 g pendant 3 minutes, freinage doux) avant de commencer les analyses. Si possible, utilisez le démarrage et l'arrêt doux de la centrifugeuse.

Traitement du sang ombilical et du sang adulte utilisés dans le cadre des expériences avec enrichissement

- Le sang ombilical et le sang adulte utilisés dans le cadre des expériences avec enrichissement peuvent également être conservés jusqu'à 72 heures.
- Le sang ombilical et le sang adulte doivent être nettoyés trois fois à l'aide du réactif D 1x (3 x 2 ml à 300 g pendant 3 minutes, freinage doux) avant l'enrichissement et le début de la procédure de marquage. Si possible, utilisez le démarrage et l'arrêt doux de la centrifugeuse.



Échantillons de contrôle

Accompagnez toujours chaque échantillon de patient d'**un échantillon de contrôle positif et d'un échantillon de contrôle négatif**. Il est recommandé d'utiliser un mélange de sang ombilical et de sang d'adulte (homme) en guise d'échantillon de contrôle positif. Lorsqu'aucun sang ombilical n'est disponible, FETALtrol (IQP-370 FT) peut être utilisé. Il est recommandé d'utiliser du sang d'adulte (homme) non enrichi en guise d'échantillon de contrôle négatif.

Contrôle positif, à utiliser pour le réglage du cytomètre

- Mélangez environ 5 % de sang ombilical au sang adulte normal (v/v). Seuls le sang ombilical et le sang adulte nettoyés peuvent être mélangés.

- Lorsque le mélange est utilisé pour le réglage et le contrôle, mais aussi pour une quantification précise des cellules enrichies, le nombre d'érythrocytes des échantillons de sang ombilical et de sang adulte doit être calculé à l'aide d'un analyseur d'hématologie. L'enrichissement pourra être calculé précisément à partir de ces résultats.

Contrôle négatif (pas de cellules fœtales)

- Il est recommandé d'utiliser le sang d'un homme adulte pour le contrôle négatif. Lors de cette procédure, traitez-le comme s'il s'agissait de l'échantillon d'un patient.

Kit d'analyse Fetal Cell Count™

Fixation et perméabilisation
échantillon de contrôle (enrichi) et échantillon de patient

1. Pour chaque échantillon de patient et les contrôles externes positifs et négatifs, étiquetez un tube de centrifugeuse à fond conique de 5 ml.
2. Ajoutez 100 µl de réactif A dans chaque tube.
3. Ajoutez 10 µl de sang complet prélevé sur EDTA, mélangez et agitez au vortex. *Utilisez 5 µl si FETALTrol est utilisé comme échantillon de contrôle.*
4. Ajoutez 100 µl de réactif B et agitez au vortex.
5. Faites incuber la suspension de cellules mélangée à température ambiante pendant exactement 30 minutes. Mélangez délicatement la suspension pendant 10 minutes.
6. Ajoutez 2 ml de réactif D 1x et mélangez les cellules en retournant les tubes à plusieurs reprises.
7. Passez la suspension de cellules à la centrifugeuse à 300 g pendant 3 minutes.
8. Éliminez le surnageant.
9. Ajoutez 100 µl de réactif D 1x.
10. Remettez en suspension le culot cellulaire et agitez délicatement au vortex.
11. Ajoutez 100 µl de réactif C et agitez au vortex (le temps d'incubation d'exactement 3 minutes démarre au premier tube). Le réactif C doit être à température ambiante (les précipités doivent être dissouts avant utilisation).
12. Après exactement 3 minutes : ajoutez 2 ml de réactif D 1x et mélangez les cellules en retournant les tubes à plusieurs reprises.
13. Passez la suspension de cellules à la centrifugeuse à 300 g pendant 3 minutes.
14. Éliminez le surnageant.
15. Ajoutez 2 mL de réactif D 1x et remettez en suspension le culot cellulaire en retournant les tubes à plusieurs reprises.
16. Passez la suspension de cellules à la centrifugeuse à 300 g pendant 3 minutes.
17. Éliminez le surnageant.
18. Resuspendez le culot cellulaire dans 1 ml de réactif D 1x et resuspendez les cellules en agitant délicatement au vortex.

Marquage immunofluorescent des échantillons de contrôle

19. Étiquetez quatre tubes à fond conique pouvant être utilisés avec le cytomètre de flux avec S1, S2, S3 et S4.
20. Ajoutez les différents composants aux tubes en suivant le tableau 1. et mélangez.
21. Faites incuber à température ambiante pendant 15 minutes dans l'obscurité (évitez la lumière directe).

Tube	Échantillon enrichi à 5 %	Réactif E	Réactif F
S1	50 µl	---	---
S2	50 µl	50 µl	---
S3	50 µl	---	50 µl
S4	50 µl	50 µl	50 µl

Tableau 1. Composants à ajouter pour régler le cytomètre de flux.

22. Ajoutez 2 ml de réactif D 1x et passez la suspension de cellules à la centrifugeuse à 300 g pendant 3 minutes.
23. Éliminez le surnageant.
24. Resuspendez le culot cellulaire dans 500 µl de réactif D 1x.
25. Les cellules sont désormais prêtes à être analysées par cytométrie en flux. Les cellules seront évaluées en 30 minutes.

Marquage immunofluorescent de l'échantillon d'un patient

26. Ajoutez dans un nouveau tube à fond conique et mélangez bien :
    a) 50 µl de réactif E - anti-humain AC marqué FITC
    b) 50 µl de réactif F - anti-humain HbF marqué R PE
    c) 50 µl de suspension d'érythrocytes (la suspension de cellules obtenue à l'étape 18)
27. Faites incuber à température ambiante pendant 15 minutes dans l'obscurité (évitez la lumière directe).
20. Ajoutez 2 ml de réactif D 1x
28. et passez la suspension de cellules à la centrifugeuse à 300 g pendant 3 minutes.
29. Éliminez le surnageant.
30. Resuspendez le culot cellulaire dans 500 µl de réactif D 1x.
31. Les cellules sont désormais prêtes à être analysées par cytométrie en flux. Les cellules seront évaluées en 30 minutes.

Acquisition des données

- Des listes d'au moins 100 000 évènements doivent être collectées pour le log FSC, le log SSC et le log signaux de fluorescence pour les deux anticorps conjugués au fluorochrome à la région limitée aux érythrocytes.
- Un nombre inférieur de 100 000 évènements aura une incidence sur la précision de l'analyse.
- Afin d'éviter que les cellules fœtales et maternelles ne soient passées au laser, il est recommandé d'analyser les échantillons à une vitesse faible ou intermédiaire.

Exigences des instruments

- Assurez-vous que le cytomètre de flux est étalonné conformément au mode d'emploi du fabricant.
- Il est recommandé de réaliser régulièrement l'étalonnage et la maintenance de l'instrument.



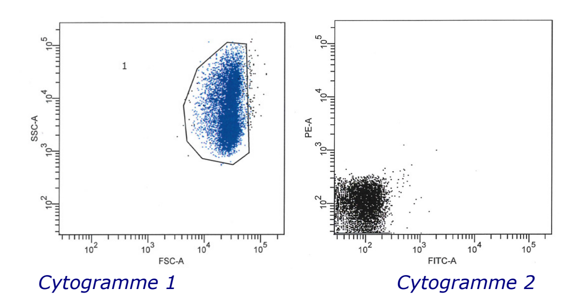
- Le cytomètre de flux doit être manipulé par un technicien compétent en la matière. L'évaluation des résultats doit être réalisée par une personne compétente dans l'interprétation des données de cytométrie en flux.

Réglage de l'instrument

Cette procédure décrit comment régler le cytomètre de flux avant l'acquisition et l'analyse des données du kit Fetal Cell Count™.
Pendant l'analyse, il est plus facile d'interpréter les données lorsque le nombre d'évènements de chaque dot plot est limité à 10 000.

Analyse

1. Sélectionnez tous les érythrocytes présents dans les **cellules de contrôle négatif (S1 ; *contrôle non marqué*)** en utilisant une région et en excluant les débris et le bruit de fond en configurant un seuil FSC adéquat (voir cytogramme 1). Sélectionnez l'amplification logarithmique pour les gains FSC et SSC. Activez la région pour les étapes ultérieures de l'évaluation.

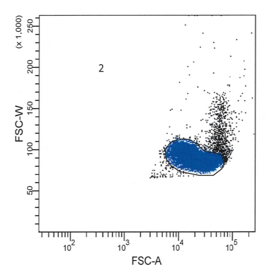


Cytogramme 1 *Cytogramme 2*

2. Le même échantillon (S1 ; contrôle non marqué) doit également être utilisé pour ajuster les tensions des tubes photomultiplicateurs (PMT) FL1 et FL2. Les signaux de référence FL1/FL2 doivent être situés dans le coin inférieur gauche du dot plot FL1 vs. FL2 (voir cytogramme 2).

3. Les doublons peuvent être exclus en créant une région positive sur les évènements uniques et en éliminant les doublons du dot plot région FSC vs largeur FSC (voir cytogramme 3).

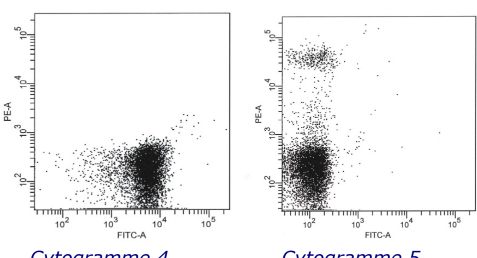
Utilisez la région 1 (évènements) et la région 2 (évènements uniques) à toutes les autres étapes et pour tous les échantillons de l'évaluation.



Cytogramme 3

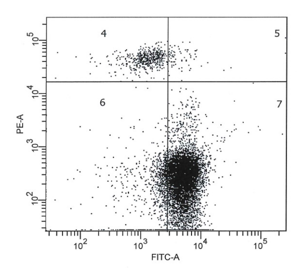
4. Afin d'ajuster la compensation FITC en FL2, l'***échantillon marqué de l'anhydrase anti-carbonique FITC* (S2)** doit être analysé. Les signaux positifs FL1 (*globules rouges adultes*) doivent se situer dans le quadrant droit inférieur du dot plot FL1 vs. FL2 (voir cytogramme 4).

5. Les réglages de compensation entre les signaux de fluorescence FITC et R-PE doivent être optimisés de manière à séparer les *cellules fœtales des cellules maternelles*. Analysez l'***échantillon marqué uniquement de l'anti-HbF R-PE (S3)*** pour ajuster la compensation R-PE en FL1. Les signaux positifs FL2 (*globules rouges fœtaux*) doivent être dans le quadrant gauche supérieur du dot plot FL1 vs. FL2 (voir cytogramme 5).



Cytogramme 4 *Cytogramme 5*

6. Enfin, l'**échantillon sanguin préparé enrichi à 5 % (S4)** doit être analysé afin de vérifier si les bonnes configurations du cytomètre sont obtenues. Réglez les axes horizontaux du quadrant afin d'évaluer l'échantillon directement par rapport aux cellules HbF positives (voir cytogramme 6) et réglez les axes verticaux directement à la gauche des cellules AC positives mais négatives au HbF. *Les globules rouges fœtaux* sont situés dans le quadrant gauche supérieur du dot plot, tandis que les *cellules F(maternelles) interférentes* se trouvent dans le coin droit inférieur avec le reste des érythrocytes maternels.



Cytogramme 6

7. Le réglage est terminé et le/les échantillon(s) du patient peuvent être traités et analysés. Lorsque les cellules fœtales de l'échantillon de contrôle positif ne présentent pas de marques de HbF (canal PE), l'essai n'est pas valide et doit être de nouveau effectué.

Résultats

Les résultats de l'analyse des échantillons des patients permettent de déterminer avec précision la concentration d'érythrocytes fœtaux dans le sang circulant maternel.
Les globules rouges fœtaux sont reconnaissables par leur forte expression en HbF et par leur plus faible expression en AC. Cela est en contraste avec les érythrocytes maternels qui n'expriment pas HbF mais expriment fortement AC, et les cellules F maternelles caractérisées par leur faible contenu en HbF et leur expression forte en AC. L'expression en AC des cellules fœtales s'accentuera après environ 32 semaines de gestation. À partir de la semaine de gestation 38, il est possible que les cellules fœtales expriment déjà l'AC dans la même mesure que les cellules maternelles.

Des résultats représentatifs obtenus avec le kit sont présentés dans les sections **« Réglages de l'appareil » et « Performances »**. La précision de comptage des érythrocytes a été évaluée en utilisant des mélanges artificiels de sang de cordons et d'adultes normaux.

Les profils démontrent clairement l'importance du second marqueur, AC, pour une identification précise des populations érythrocytaires dans le sang maternel. En l'absence du marqueur, la séparation des cellules fœtales et des cellules F maternelles est délicate.
Les résultats obtenus peuvent être utilisés pour déterminer le volume de sang fœtal présent dans le sang maternel.

Contrôle Qualité

Tous les réactifs du kit **Fetal Cell Count™** ont été évalués avec des mélanges artificiels de sang de cordons et d'adultes normaux. Linéarité et précision de comptage des cellules fœtales ont été analysées. [17,18]

Limites de la méthode

- La méthode nécessite l'utilisation de sang prélevé dans des conditions aseptiques, par du personnel compétent.
- Le kit **Fetal Cell Count™** est prévu pour la quantification des érythrocytes fœtaux par cytométrie; il n'est pas adapté pour des études en microscopie.
- La performance du kit ***Fetal Cell Count™*** n'a pas été évalué avec des échantillons autres que ceux d'origine humaine.
- Le kit **Fetal Cell Count™** doit être utilisé pour le *Diagnostic In Vitro* dans les pays de la Communauté Européenne. Dans les autres pays, il doit être utilisé dans un cadre de recherche uniquement.
- La précision de la méthode de cytométrie dépend de l'utilisation d'un appareil de cytométrie dûment réglé, entretenu et contrôlé selon les recommandations du fabricant.
- Lyse des globules rouges et une diminution de l'expression des marqueurs HbF et AC ne peut pas être exclu quand les cellules sont conservées à température ambiante pendant plus de 72 heures (3 jours). Ainsi, la préparation des cellules et leur incubation avec les anticorps doivent être effectuées dans les 3 jours qui suivent le prélèvement.

Performance de la méthode

Spécificité des anticorps - l'anticorps monoclonal est spécifique de la chaîne γ de l'hémoglobine fœtale F (HbF) (ref. 12). L'anticorps polyclonal reconnaît spécifiquement l'anhydrase carbonique.

Corrélation avec la méthode indirecte: kit Fetal Cell Count™ kit (IQP-370)
Cette méthode représente une amélioration significative de la méthode indirecte précédemment proposée, utilisant des réactifs secondaires (IQP-370). L'évaluation du test à démontré des performances équivalentes pour les deux méthodes ; la méthode directe (IQP-379) présente cependant une limite de détection améliorée de 0,014% (100.000 cellules, 3 SD). Le coefficient de corrélation (r^2) pour les deux méthodes est > 0,99.

Linéarité - L'analyse de mélanges artificiels d'érythrocytes contenant de 0.00 à 5.00% de cellules de cordons (v/v) a montré une très forte corrélation (r=0,999) avec les valeurs théoriques attendues, pour des comptages de 100.000 cellules.

Spécificité du test – Les échantillons de donneurs de sang utilisés comme témoins n'ont présenté aucune cellule dans le quadrant UL (zone des cellules HbF+, CA-). Ces résultats démontrent que les échantillons d'une population témoin ne contiennent pas d'éléments susceptibles d'interférer avec l'analyse spécifique des érythrocytes fœtaux.

Limite de détection – La limite de détection de la méthode est basée sur l'analyse de mélanges artificiels. Elle a été déterminée à 0,014% par comptage de 100.000 cellules. Elle est améliorée par un comptage d'un nombre plus important de cellules.

Evaluation clinique du test- Un total de 737 échantillons a été analysé au cours des évaluations cliniques. Une partie des résultats est présenté ci-dessous ; les publications rassemblant l'ensemble des résultats peuvent être obtenues via marketing@iqproducts.nl .

- Au cours de l'évaluation clinique du kit IQP-379, ses performances ont été évalués en comparaison avec celle du kit utilisant la méthode indirecte (IQP-370). La corrélation entre les deux méthodes est r^2 > 0,995.
- L'évaluation clinique a également permis l'analyse du kit Fetal Cell Count™ en comparaison avec le test de Kleihauer-Betke (KB). Dans cette étude, 130 échantillons de patients ont été analysés.

		Fetal Cell Count™		
		+	-	Total
Kleihauer-Betke	+	17	11	28
	-	0	102	102
	Total	17	113	130

- 13,1% (17/130) de cas d'hémorragie foeto-maternelle ont été identifiés par les deux méthodes.
- Sur un total de 130 échantillons de patients, 28 (28/130 - 21,59%) ont été identifies à des échantillons positifs en utilisant le test KB.
- Sur ces 28 échantillons positifs selon le test KB, seuls 17 patients (17/28 - 61,00%) possédaient des cellules fœtales identifiées par cytométrie en flux en utilisant le Fetal Cell Count™ kit (valeurs de 0,17 to 11,2%). Les 7 autres patients de la série (11/28 – 39,00 %) ont présenté un profil atypique en test KB, avec une faible coloration des cellules identifiées comme positives.
- Sur le kit ™ de comptage de cellules positives et fœtale 11 Kleihauer-Betke du patient négatif 7 avait un motif de test de Kleihauer-Betke atypique avec très faible coloration des cellules. Ces échantillons ont montré un modèle typique de la thalassémie. Ces patients par correspondant de ont été diagnostiqués comme étant thalassémique.

Bibliographie

1. NEN EN ISO 15223-1 Medical devices - Symbols to be used with medical device labels, labeling and information to be supplied – Part 1: General requirements.
2. Sebring, E.S., Polesky, H.F. 1990. Fetomaternal hemorrhage: incidence, risk factors, time of occurence, and clinical effects. Transfusion 30: 344-357.
3. Garratty, G., and Arndt, P.A. 1999. Applications of flow cytofluorometry to red blood cell immunology. Cytometry (Communications in Clinical Cytometry) 38: 259-267.
4. Nance, S.J., Nelson, J.M., Arndt, P.A., et al. 1989. Quantitation of Feto-maternal hemorrhage by flow cytometry, a simple and accurate method. Am.J.Clin.Pathol. 91: 288-292.
5. Hadley, A.G. 1998. A comparison of in vitro tests for predicting the severity of haemolytic disease of the fetus and newborn. Vox Sang. 74: 375-383.
6. Lee, D., Contreras, M., Robson, S.C., Rodeck, C.H., Whittle, M.J. 1999. Recommendations for the use of anti-D immunoglobulin for Rh prophylaxis. Transf.Med. 9: 93-97.
7. Kleihauer, P., Braun, H., and Betke, K. 1957. Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear. Klin.Wochenschr. 35: 637-638.
8. Davis, B.H., Olsen, S., Bigelow, N.C., Chen, J.C. 1998. Detection of fetal red cells in fetomaternal hemorrhage using a fetal hemoglobin monoclonal antibody by flow cytometry. Immunohematology 38: 749-756.
9. Johnson, P.R., Tait, R.C., Austin, E.B., et al. 1995. Flow cytometry in diagnosis and management of large fetomaternal haemorrhage. J.Clin.Pathol.48: 1005-1008.

10. Nelson, M., Popp, H., Horky, K., Forsyth, C., Gibson, J. 1994. Development of a flow cytometric test for the detection of D-positive fetal cells after foetalmaternal hemorrhage and a survey of the prevalence in D-negative women. Immunohematology 10: 55-59.
11. Corsetti, J.P., Cox, C., Leary, J.F., Cox, M.T., Blumberg, N., Doherty, R.A. 1987. Comparison of quantitative acid-elution technique and flow cytometry for detecting fetomaternal hemorrhage. Ann.Clin.Lab.Sci. 17: 197-206.
12. Navenot, J.M., Merghoub, T., Ducrocq, R., Krishnamoorthy, R., Blanchard, D. 1998. A new method for quantitative determination of fetal hemoglobin-containing red blood cells by flow cytometry: application to sickle cell disease. Cytometry 32: 186-190.
13. Nelson, M., Zarkos, K., Popp, H., Gilson, J. 1998. A flow-cytometric equivalent of the Kleihauer test. Vox Sang. 75: 234-241.
14. Navenot, J.M., Blandin, A.M., Willem, C., Bernard, D., Muller, J.Y., Blanchard, D. 1995. In situ detection of foetal hemoblobin by flow cytometry: evaluation of a simple procedure for quantitating foetal erythrocytes in maternal peripheral blood. In: International Society of Blood Transfusion – 5th Regional Congress; Venice 2-5 July, abstract POS 309, p239.
15. Blanchard, D., Bernard, D., Loirat, M.J., Frioux, Y., Guimbretière, J., Guimbretière, L. 1992. Caractérisation d'anticorps monoclonaux murins dirigés contre les érythrocytes foetaux. Rev.Fr.Transfus.Hémobiol. 35: 239-254.
16. Brady, HJ.M., Edwards, M., Linch, D.C., 1990 Expression of the human carbonic anhydrase I gene is activated late in fetal erythroid development and regulated by stage-specific trans-acting factors. British Journal of Haematology 1990, 76, 135-142.
17. Bernaud, J., Rigal, D., Porra, V., Follea, G., Blanchard, D. Fetal Cell Count™ - a commercial kit for quantification of fetal cells in maternal blood by flow cytometry. 5th Euroconference on Clinical Cell Analysis. Athens, Greece, 20-25 September 2005.
18. Porra, V., Bernaud, J., Gueret, P., Bricca, P., Rigal, D., Follea, G., and Blanchard, D. 2007 Identification and quantification of fetal red blood cells in maternal blood by a dual-color flow cytometric method: evaluation of the Fetal Cell Count kit. Transfusion, 47:7, 1281 – 1289.
19. Leers MP, Pelikan HM, Salemans TH, Giordano PC, Scharnhorst V. Discriminating fetomaternal hemorrhage from maternal HbF-containing erythrocytes by dual-parameter flow cytometry. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2006 Jul 24.

Garantie

Quantité et contenu des produits composant le kit sont garantis conformes à l'étiquetage, au moment de la livraison. Aucune garantie, implicite ou explicite, n'est donnée au delà de l'étiquetage. Le fabricant, IQ Products bv, ne pourrait être tenu responsable pour responsable de tout dommage de propriété, accident du personnel, ou perte économique causée par le produit.

Mise aux déchets

Respecter les exigences réglementaires en vigueur dans le pays d'utilisation. Pour la France: GBEA du 26 Novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale.

Tableau des Symboles

	Consulter les instructions d'utilisation
REF	Référence du catalogue
	Suffisant pour
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Attention voir notice d'instructions
	Ne pas exposer aux rayons (solaires)
	Risques biologiques
	Limites de température (°C)
RUO	Pour la recherche uniquement
LOT	Code du lot
	Utiliser jusque
	Fabricant
EC REP	Mandataire dans la Communauté européenne
CE	Conformité Européenne

Ce produit est enregistré pour "diagnostic in vitro" dans les pays de la Communauté Européenne. Dans les autres pays, il sera utilisé comme produit de recherche et libellé « for research use only ».

IQ Products bv
Rozenburglaan 13a
9727 DL Groningen, The Netherlands
+31 (0)50 57 57 000
+31 (0)50 57 57 002
Technical marketing@iqproducts.nl
Orders orders@iqproducts.nl
www.iqproducts.nl